

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

22 1994

## Инъекционный полиакриламидный гидрогель «Формакрил» и тканевая реакция на его имплантацию

Проф. А.Б. ШЕХТЕР\*,  
В.В. ЛОПАТИН,  
С.Л. ЧОЧИЯ, Г.Г. МАТИАШВИЛИ  
ММА им. И.М. Сеченова, Москва  
НИИ резинových и логических изделий, Москва  
ООО «Гель косметик технологий, Москва

Целью исследования явилось изучение свойств полиакриламидного гидрофильного геля (ПГГ) «Формакрил», предназначенного для внутритканевых инъекций с целью контурной пластики мягких тканей, заполнения тканевых полостей и т.д., а также заполнения протезов молочной железы. ПГГ представляет собой перекрестосвязанный полиакриламидный материал с разветвленной структурой, состоит из 95 % воды и 5 % полимера. При имплантации не растворяется и не набухает, обладает длительной высокой формоустойчивостью, вязкостью и упругостью, ионо- и кислородопроницаемостью.

Тканевая реакция, изученная в динамике от 3 суток до 1 года при экспериментально-морфологическом исследовании на 60 крысах и 10 собаках с использованием гистохимических методов, а также на биопсийном клиническом материале (3 наблюдения), свидетельствует о высокой степени биосовместимости ПГГ «Формакрил». В ранние сроки воспалительная реакция и отеки были минимальными, фиброblastическая реакция очень слабой, соединительно-тканная капсула в поздние сроки очень тонкой. Резорбция геля макрофагами выявлена только вблизи капсулы; также отмечено незначительное прорастание геля соединительно-тканными тяжами. Основной массой геля оставался гомогенным. Клетки в него не проникали. Обращает внимание полимеризованный (т.е. перекрестосвязанный) геля (форма А) при имплантации вызывают более выраженную и пролонгированную воспалительную

\*А.Б. ШЕХТЕР,  
Москва, 121170, Кузнецкий пр., дом 43, кв. 144. Тел. 242-91-67

## Injectable hydrophilic polyacrylamide gel Formacryl and tissue response to its implantation

Professor A.B. SHEKHTER\*, V.V. LOPATIN,  
S.L. CHOCHIVA, G.G. MATIASHVILI  
I.M. Sechenov-Moscow Medical Academy, Moscow, Russia  
Research Institute of Rubber and Latex Products,  
Moscow, Russia  
Gel Cosmetic Technology Ltd., Moscow, Russia

The objective of this study was to examine properties of hydrophilic polyacrylamide gel (HPG) Formacryl designed to be used for soft tissue contour plastics, filling tissue cavities, and other purposes by means of intralut administration. The product may also be useful as a filler for mammary gland prostheses. HPG is a cross-linked network of branched polymer units containing 95% of water and 5% of acrylamide. The most important properties of the material are high viscosity and elasticity, ready permeability for ions and oxygen, and the ability to long retain the initial shape after implantation, in the absence of swelling and dissolution.

Tissue responsiveness to HPG between 3 days and 1 year after the application was evaluated by histochemical methods in an experimental morphological study on 60 rats and 10 dogs. In addition, biopsy material from 3 human patients was obtained and processed for analysis. The results have demonstrated a very good biocompatibility of the product. The tissue showed only mild inflammation and edema and a weak fibroblastic response in early post-treatment period. Later, the connective tissue capsule underwent marked thinning. Gel resorption by macrophages was apparent only close to the capsule whereas infiltration by connective tissue fibers was insignificant. The bulk of the gel remained homogeneous and appeared impenetrable for the cells. Samples of less polymerized (cross-linked) gel (type A) elicited more prominent and long-lasting inflammatory reaction and underwent stronger resorption by macrophages following im-

\*A.B. SHEKHTER,  
Kuluzovskiy pros., 43, kv. 144, Moscow 121170, Russia

\*22 July 1996

Thank you for your fax of 3 July 1996 concerning injectable polyacrylamide hydrogel.

The German translation from the Russian text is very interesting but not very clear. I presume it concerns a Ukrainian product and the tests described would be insufficient for recognition by health authorities in the European Union. It sounds as if this injectable material is «wunder mittel» for augmentation everywhere in the body. It is not clear to me whether the material can be used as a filler for breast implants. The combination of hydrogel with silicone should also be tested.

I would be interested in the opinion of biomaterials experts. J.-P.A. NICOLAI, plastic surgeon. I believe no comments are needed. Still, I would like to emphasize that polyacrylamide gel interfall is allowed to be used for augmentation mammoplasty only in the Ukraine, now an independent state whose legislation has no strength in Russia. Application of polyacrylamide gels for the same purpose has not been authorized in this country.

Hopefully, recent publications on the medical application of polyacrylamide gels will give incentive to further studies along this line. The Editorial Board of the Annals of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery would greatly appreciate more information about polyacrylamide gels and other biological materials for plastic surgery for publication in this journal.

Professor N.O. MILANOV  
President of Society of Plastic, Reconstructive  
and Aesthetic Surgeons  
Editor-in-Chief  
of The Annals of Plastic, Reconstructive  
and Aesthetic Surgery.

предназначено отделению пластической хирургии, в том числе базильно в Вашей клинике, для выяснения возможности, путем введения, увеличения массы молочной железы с включением в комплекс обследований до- и повторные послеоперационные маммографические исследования и биопсию.

2. Кроме того, совершенно необходимо подтвердить, что только широко признанные специалистами и центры могут применять официально утвержденный продукт. Этого не хватает для контроля использования фальсифицированных материалов. Как Вам хорошо известно, в первой декаде применения методики был случай, когда неопытный медицинский персонал широко применялся в различных странах мира, и это привело к серьезным осложнениям. Это будет очень досадно, если продукт, который представляется легким для практического использования, будет применяться на практике некомпетентными людьми.

Prof. U. HINDERER  
Генеральный Секретарь Международной Конференции обществ пластической, реконструктивной и эстетической хирургии.

Кроме того, ко мне попало письмо проф. J.-P.A. Nicolai профессору U. Hinderer и Управляющему директору (named B.V.) г-ну R. van der Vaart.

22 июля 1996 года.

Спасибо за факс от 3 июля 1996 г. относительно полиакриламидного гидрогеля для инъекций.

Немешкий перевод с русского текста очень интересен, но совсем неясен. Я полагаю, что речь идет об имплантации продукта, а описанные тесты, по-видимому, недостаточны для утверждения его органами здравоохранения в Европе. Похоже, что этот инъекционный материал представляет из себя «чуждое» средство для увеличения любого органа тела. Остается неясным, можно ли этот материал использовать как наполнитель для имплантатов молочной железы. Комбинация гидрогеля с силиконом тоже должна быть подвергнута проверке.

Я крайне заинтересован в мнении экспертов по биоматериалам.

J.-P.A. NICOLAI, plastic surgeon. Отказываясь от комментариев ввиду их нецелесообразности, я вынужден обратить внимание на то, что использование полиакриламидного геля «Интерфалл» для увеличения молочной железы разрешено на Украине, которая является суверенным государством и приняла ее решения на Россию не распространяются. Официально же разрешения на использование полиакриламидных гелей для увеличения молочной железы в России нет.

Хотел бы надеяться, что эти первые публикации об использовании полиакриламидных гелей дадут стимул к дальнейшему анализу их использования и к последующим публикациям. Редакция журнала также будет очень признательна разработчикам полиакриламидных гелей, а также других биологических материалов за предоставление информации для публикации на страницах нашего журнала.

Президент ОПРЭХ,  
Главный редактор журнала  
и эстетической хирургии,  
член-корреспондент РАМН,  
профессор Н.О. МИЛАНОВ

реакции) и более интенсивную макрофагальную реакцию. Повышенная гидратация геля (до 98 % воды) также усиливает тканевую реакцию, что свидетельствует о принципиальной важности структуры геля для его биомиметичности. Высокая биосовместимость геля «Формакрил» позволяет вводить реципиенту относительно большой его объем.

## Материал и методы

**1. Характеристики геля «Формакрил».** Полиакриламидный гидрофильный гель «Формакрил» представляет собой прозрачный, бесцветный, гомогенный материал желеобразной консистенции, состоящий из 5 % полимера и 95 % воды и имеющий следующие характеристики: показатель преломления 1,334-1,338; pH 7-8,5; окисляемость 0,2-1 (в мг кислорода на 1 г). Синтезируемый полиакриламидный материал является поликриноллитом полимером с разветвленной структурой, имеющим различные функциональные группы ( $\text{C-NH}_2$ ,  $\text{C-O-NH}_2$ ,  $\text{N}_2$  и другие), которые оказывают влияние на физико-химические свойства геля: свертываемость, вязкость, окисляемость.

Синтез материала проводили в водной среде в присутствии катализатора с последующей отмывкой от мономеров и остатков катализатора. Вся молекулярная масса геля после попережного свертывания представляет собой единую гигантскую макромолекулу, являясь высокогидрофильным материалом с большим содержанием воды. Гидрогель не растворим в воде и в тканевой жидкости, так как его молекулярная структура, удерживая определенное количество воды, обеспечивает отсутствие набухания выше определенной нормы. Высокая формоустойчивость геля при имплантации связана со стойкостью к усадке, высокой упругостью и вязкостью.

Следует отметить, что уже через 24 часа после имплантации животных образцов геля с низким pH (3,5) в извлеченном геле pH соответствовала тканевой жидкости, что связано с замещением воды имплантата. Такая высокая ионотропность, так же, как и кислородная проницаемость гидрогеля является весьма важной для длительной имплантации, так как свидетельствует о его включении в тканевый обмен.

Для изучения тканевой реакции были использованы два варианта образцов полиакриламидного гидрогеля с различной полимерной структурой: форма А и форма Б, отличающиеся степенью поперечного сшивания и другими характеристиками. Форма А была получена одностадийным, а форма Б - двухстадийным способом. Структуру материалов косвенно определяли с помощью ИК-спектроскопии на спектрофотометре УР-20 (Карл Цейсс), переводя гель в состояние набухания под вакуумом при 30°C в течение 7 суток.

Результаты исследований имплантации (см. выше) показали, что целесообразно применять гидрогель формы Б, получивший затем название «Формакрил».

## ТАНЕВАЯ РЕАКЦИЯ НА ИМПЛАНТАЦИЮ «ФОРМАКРИЛА»

Этот материал после токсикологического и иммунологического изучения, а также клинического испытания разрешен к использованию в клинической практике решением Комитета по новой медицинской технике МЗ РФ.

**2. Материал и методы морфологического исследования.** Тканевая реакция на имплантацию геля была изучена в экспериментально-морфологическом и клинико-морфологическом исследованиях. В эксперименте гель был имплантирован подкожно и внутримышечно путем инъекции. Исследования проводили на 160 крысах-самках линии Август весом 200 г и 10 собаках. На крысах изучали различные образцы геля формы А и формы Б, разной степени вязкости, с различным pH.

Вводили 1 мл геля. Сроки морфологического исследования на крысах составляли 3, 7, 14, 30, 90 суток. Длительные сроки имплантации (6, 9, 12 месяцев) изучали на собаках, которым вводили по 15 мл геля подкожно.

В клинике морфологическое исследование проводили в трех наблюдениях: через месяц после имплантации - под кожу лицевой области и через 6 и 6,5 месяцев после имплантации - с целью увеличения маммопластики путем наполнения гелем полости фиброзной капсулы после удаления протоэфов.

Для гистологического и гистохимического исследования тканевые блоки были фиксированы в спирте 96% или нейтральном формалине, заливались в парафин. Срезы окрашивались гематоксилин-эозином, пикрофуксин по Ван-Гизону, серебрением по Голдману для изучения волокнистых компонентов, толунидовым синим на кислые гликозаминогликаны, исследовались PAS-реакцией на гликоген и т.л. и глицерине, реакцией Браше на РНК.

## Результаты изучения тканевой реакции

**1. Экспериментально-морфологическое исследование.** Изучение гидрогеля «Формакрил», полученного двухстадийным способом (форма Б), в эксперименте на крысах дало следующие результаты.

На 3-и сутки после инъекции в пограничной зоне между имплантатом и подлежащей клетчаткой отмечалась умеренно выраженная лимфо-макрофагальная инфильтрация (рис. 1). Цитоплазма макрофагов содержала выявляемую при PAS-реакции зернистость, что свидетельствует о фагоцитарной активности клеток. Обращает на себя внимание почти полное отсутствие нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов. Отек тканей также выражен слабо. В этом же узком слое отмечается начало пролиферации фибробластов, в некоторых из них видны митозы. Цитоплазма фибробластов богата РНК, что свидетельствует о функциональной активности (синтезе коллагена). Вокруг клет-

clinical morphological studies. In experiments, the gel was implanted by means of subcutaneous or intramuscular injections to 160 Augustus male rats weighing 200 g and to 10 dogs. The rats were given either A or B gel of different viscosity and pH (1 ml) and followed up for 3, 7, 14, 30, and 90 days. Delayed effects of implantation were evaluated 6, 9, and 12 months after subcutaneous injection of 15 ml gel to dogs.

The clinico-morphological study was designed to follow up patients during one month after gel implantation through the facial skin and 6 and 6.5 months following implantation for augmentation mammoplasty (by filling the fibrous capsule after removal of the prosthesis).

Tissue specimens for histological and histochemical examination were fixed in 96% alcohol or neutral formalin and embedded in paraffin. The following procedures were used to treat the sections: hematoxylin-eosin staining, Gieson pyrolochin staining, Gomori silver impregnation to reveal fibrous structures, toluidine blue staining for acid glycosaminoglycans, PAS reaction for glycogen and glycoproteins, and Brachet reaction for RNA.

## Results of investigations into tissue responsiveness

### 1. Experimental morphological study

The experimental study of hydrogel Formacryl obtained by two-stage synthesis (form B) and administered to rats yielded the following results.

The boundary zone between the implant and subcutaneous cellular tissue underwent infiltration by lymphocytes and macrophages within 3 days after gel injection (fig. 1). Cytoplasm of macrophages contained PAS-positive gran-



Рис. 1. Тканевая реакция на 3 сутки после имплантации крысам геля «Формакрил». Умеренная лимфо-макрофагальная инфильтрация в жировой клетчатке на границе с имплантатом. Капсула еще не формируется. Окраска гематоксилин-эозином, х 250

Fig. 1. Tissue reaction 3 days after Formacryl implantation to rats. Moderate lympho-macrophage infiltration of adipose cellular tissue close to the implant. The capsule is absent. Hematoxylin-eosin, x 250

ules suggesting active macrophage phagocytosis. A remarkable finding was almost complete absence of neutrophilic and enzymophilic leucocytes; therefore, only very weak inflammation, if any, could be suspected. Tissue edema was equally insignificant. Fibroblasts presented in the narrow boundary zone gave evidence of proliferation and mitoses. Their cytoplasm contained large amounts of RNA which was assumed to reflect functional activity of the cells (collagen synthesis). Silver impregnation revealed the presence of immature collagenous fibers around fibroblasts which failed to incorporate pyrolochrom. However, the total number of fibroblasts and fibers was small, and no connective tissue capsule was apparent. The gel exhibited few changes during this early period and contained only marginal macrophages and neutrophils.

A thin and almost transparent capsule was first macroscopically observed to be forming around the gel 7 days after implantation. Simultaneously, microscopic evidence of a very thin connective tissue capsule was obtained. The capsule consisted of spindle fibroblasts and a few layers of mature but thin collagenous fibers stained with pyrolochrom. The interface between the gel and the capsule gave way to a continuous macrophage lining containing isolated multinuclear cells which actually resulted from macrophage confluence.

Thickened capsule portions were found to contain areolar tissue fragments with numerous thin-walled vacuoles filled with the gel or having actually no contents as a result of gel lysis. These portions hosted occasional fibroblasts and fibrils along with macrophages and isolated multinuclear cells (fig. 2). Here and there, the capsule produced small papilliform outgrowths largely built up of macrophages which penetrated the gel.

Two weeks after implantation, the capsule was well-developed even though it remained loose and thin. At this time, it consisted of almost mature connective tissue, contained more collagenous fibers and less fibroblasts whose cytoplasm underwent a simultaneous decrease of RNA content. Also, the capsule had an almost continuous inner lining of large macrophages. Both the capsule and especially the retrocapsular zone still contained fragments of areolar tissue and the gel surrounded by macrophages and giant cells responsible for gel resorption (fig. 3). On the whole, the implant remained homogeneous even though it experienced enhanced peripheral infiltration, largely by macrophages.

The capsule remained thin even 1-3 months after gel implantation. It consisted of mature but loose connective tissue containing even less fibroblasts than at the previous stages (fig. 4). More or less big fragments of the areolar tissue were still present outside the capsule while the implanted gel remained homogeneous, with only occasional cords of connective tissue growing into it and separating the gel into fragments. This ingrowing process slightly intensified by the end of the third month and immediately after this time.

The subsequent fate of the implant was followed up in



Рис. 2. Тканевая реакция на 7 суток после имплантации крикам «Формакрила» (форма Б). Начало формирования капсулы. Видны макрофаги на ее внутренней поверхности. В толще капсулы вакуоли с гелем или пустые, там же макрофаги и отдельные гиганты Сиве-Келли.  
Окраска гематоксилин-эозином, х400

Fig. 2. Tissue reaction 7 days after Formacryl (form B) implantation to rats. The initial stage of capsule formation. There are macrophages on its inner surface and gel-filled or empty vacuoles in the bulk where macrophages and isolated giant cells are also present.  
Hematoxylin-eosin, x400.



Рис. 4. Тканевая реакция на 30 суток после имплантации крикам «Формакрила». Толща капсулы атрофична, выстлается изнутри макрофагами. В 30-дневной зоне отдельные вакуоли.  
Окраска гематоксилин-эозином, х400

Fig. 4. Tissue reaction 30 days after Formacryl implantation to rats. The capsule is thin and lined with the inner lining of macrophages. The retrocapsular zone contains isolated vacuoles.  
Hematoxylin-eosin, x400.



Рис. 3. Тканевая реакция на 14 суток после имплантации крикам «Формакрила». Капсула атрофична, в ее толще видны разреженные участки (вакуоли) гелевой ткани с многочисленными макрофагами и тонкими фрагментами резорбируемого геля. Макрофаги и тонкие клетки.  
Окраска гематоксилин-эозином, х400

Fig. 3. Tissue reaction 14 days after Formacryl implantation to rats. The capsule is thin, the retrocapsular zone contains areolar tissue with numerous vacuoles, macrophages and cord-like gel fragments undergoing resorption.  
Hematoxylin-eosin, x400.

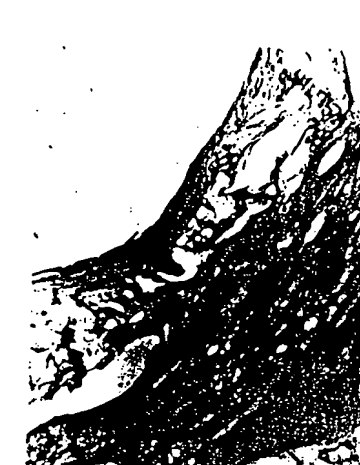


Рис. 5. Тканевая реакция на 9-й месяц после имплантации крикам «Формакрила» собакам. Гель в основном сохранился, в капсуле очень тонкая и зрелая. Между капсулой и гелем сохранились пенящиеся макрофаги (вверху). Сильно развиты также соединительнотканная ткань, прорастающая в геле.  
Окраска гематоксилин-эозином, х400

Fig. 5. Tissue reaction 9 days after Formacryl implantation to dogs. The gel is largely homogeneous and the wall of the capsule remains to be very thin. There are numerous cords of connective tissue cords outgrowing into the gel.  
Hematoxylin-eosin, x400.

Рис. 5. Это клетки, формирующие гелем, который остается в их цитоплазме. В них вакуоли. Местами капсула отделила гелем от капсулы, капсулы загустевшей.

ины, состоящей из сетевидной внешней ткани. В этой линии продолженного геля постепенно происходит ли- нис последнего и резорбция его макрофагами и гига- нтскими клетками. Фибриллизация и просветление слоя, как и в эксперименте с крысами, происходит только в этих фрагментах или внутри от капсулы, обни- жда для нее. Глубокой инфильтрации клеток в гель у собак также не выявлено, что является причиной его долгие- кой устойчивости.

В группе крыс, где изучались образцы геля, полу- ченного одностадийным способом (форма А), которая характеризуются недостаточной поперечной сшивкой, истологическая картина резко менялась.

Через 7 суток после имплантации капсул вокруг геля состояла из незрелой грануляционной ткани, в которой выявлялась воспалительная реакция в виде отека, нейтрофильной лимфоцитарной инфильтрации, выраженной макрофагальной реакции. Проплиферация фибробластов и созревание соединительных тканей были замедлены. К 14 суткам капсула имеет такую же картину, причем грануляционная ткань созревает не- значительно, остаются нейтрофильная воспалительная реакция и многочисленные макрофаги, резорбирую- щие гель. Через 36 суток весь имплантат представлен единственными конгломератами, которые перемежа- ются скоплениями крупных пенных макрофагов. Со- единительно-тканная капсула, толстая, состоит из склерозированной ткани, в которой сохраняется хро- ническая воспалительная инфильтрация.

Таким образом, используемый в этих опытах гель формы А, обуславливал выраженный и пролонгиро- ванную воспалительную реакцию, а также сравнитель- но быструю макрофагальную резорбцию геля, что связано с изменением молекулярной структуры геля.

Следует отметить, что для тканевой реакции важ- не только степень полимеризации, но и степень гид- ратации геля. В опытах с гелем формы Б, но менее вяз- ким (98 % воды), также отмечена более выраженная инфильтрация геля (причем всего масса, а не толь- ко прикапсулярной зоны) макрофагами и пролифери- рующими соединительно-тканными тяжами. Капсула на 14-30 суток была значительно более толстой и инфильтри- рованной клетками.

2 Клинико-морфологические наблюдения. Как уже- звалось выше, мы располагаем тремя наблюдениями- ми тканевой реакции на гель «Формакрил». В одном- случае гель (90 мл) был использован для дермогенеза- кожного жирового лоскута на лице с целью последую- щей пластики рубцов. Материал (часть лоскута на гра- нис с гелем) через один месяц после инъекции был- предоставлен нам доктором М.А. Суланамидзе. При- морфологическом изучении тканевая реакция в клет- чатке вокруг имплантата была минимальной. На гра- нисе между гелем и тканями формируется очень тон- кая и рыхлая соединительно-тканная капсула, состо- ящая всего из нескольких слоев коллагеновых волокон- и фибробластов. Клеточная лимфо-макрофагальная

closed in a very thin connective tissue capsule (20-150 mcm) containing clumps of large macrophages with the foamy surface (fig. 5). These cells appeared to phagocy- tize the gel the traces of which could be seen in their cyto- plasm as residual vacuoles. Now and then, the capsule separated the gel from the thicker retrocapsular zone formed by the areolar tissue. This zone gradually under- went lysis of the gel and its resorption by macrophages and giant cells. Similar to what was observed in rats, fibril- lization and clearing of the gel occurred only in these frag- ments or inside the capsule. No deep infiltration of the gel could be seen in dogs, as in rats, which is believed to account for its persistence.

Quite a different histological picture was obtained fol- lowing administration of the gel obtained by the one-stage synthesis (form A) to another group of rats, probably be- cause it had a smaller degree of cross-linking compared with form B.

Seven days after implantation, the capsule around the gel consisted of an immature granulation tissue showing signs of inflammation in the form of edema, lymphocytic infiltration, and prominent macrophage reaction. Both fibroblast proliferation and maturation of the connect- ive tissue were significantly retarded. By day 14, the cap- sule was as thick as before, the granulation tissue re- mained immature, neutrophilic inflammation persisted, and numerous macrophages caused gel resorption. On day 36, the implant consisted of cellular conglomerates alternating with aggregated large foamy macrophages. The connective tissue capsule was thick and composed of sclerotic tissue undergoing chronic inflammatory infil- tration.

To summarize, gel A induced strong and persistent in- flammation and was subject to relatively fast resorption by macrophages which resulted in a pronounced change in the gel molecular structure.

It should be emphasized that the degree of hydration of the gel is as important for the tissue responding to its administration as the degree of polymerization. When a less viscous gel B variety containing 98% of water was employed, the infiltration of its entire volume (not only the retrocapsular zone) by macrophages and penetration by connective tissue cords were more prominent than after implantation of the standard material. The capsule be- came much thicker and contained more cells between 14 and 30 days.

## 2 Clinical morphological study

It has been mentioned above that we observed 3 clin- ical cases in which the tissue response to Formacril ad- ministration was possible to evaluate. In one of them, 90 ml of the gel was injected to achieve dermoelation of the cellulocutaneous flap for subsequent facial cicatricoplas- ty. The material for the study (a part of the flap which had been in touch with the gel for one month after the implan- tation) was kindly provided by Dr. M.A. Sulanamide. Its morphological examination revealed only minimal response of the cellular tissue surrounding the implant. A very thin



Рис. 6. Тканевая реакция через месяц после подкожной им- плантации «Формакрилом» пациенту. Тонкая капсула на гра- нисе подкожной клетчатки и имплантата. Клеточная реакция в ткани минимальна.

Fig. 6. Tissue reaction four months after subcutaneous implanta- tion of Formacril (A patient). There is a thin capsule at the bound- ary between the gel and the surrounding cellular tissue and the implant. The cellular reaction in the minimal.

инфильтрация была минимальной, местами прак- тически отсутствовала (рис. 6). В некоторых участках снаружи от капсулы были видны тканевые вакуоли, оставшиеся на месте резорбированного геля. Там от- мечается слабо выраженная макрофагальная и гига- нтско-клеточная реакция, но без заметной воспалитель- ной инфильтрации (рис. 7).

В двух наблюдениях изучалась тканевая реакция на гель «Формакрил», введенный в количестве 200 мл на место удаленного силиконового протеза молочной железы в полость, оставшейся фиброзной капсулы. Через 6 и 6-5 месяцев биопсии из капсулы протека- ты пробы для микробиологического исследования, кото- рое показало, что тканевая реакция на гель была сла- бо выраженной. «Старая» фиброзная капсула почти- всегда была подвержена обратному развитию. Им- плантатуру жидким гелем соединительно-тканной кап- сулы без нарушения микробиологического слоя, как в капсулах старой, силиконового протеза. Места- ми в капсулах были видны небольшие лимфо-мак- рофагальные «облачка» без воспалительной ней- трофильной реакции. Сосуды капсулы немногочис- ленны, дистрофических изменений в ней не обнару- жено.

Вблизи капсулы отмечаются неглубокие пропаста- ние тонких соединительно-тканных тяжей (фибробла- стов, макрофагов) в тонких незрелых коллагеновых во- локнах в геле (рис. 8). Фибробласты более крупные и активные, чем в капсуле и содержат повышенное ко- личество РНК в цитоплазме. Часть макрофагов име- ют крупные полые цитоплазмы (активный фагоцит- тоз). Также со-единительной ткани разделяют гель



Рис. 7. Тот же случай. Тонкая капсула, но в за- ка- псулярной зоне видны отдельные вакуоли, оставшиеся по- сле резорбции, а также незначительная инфильтрация по- степенно созревающими гигантскими клетками.

Fig. 7. The same patient as in fig. 6. The capsule remains thin and loose, but the retrocapsular zone shows separate vacuoles, where the gel was previously located. There is a slight infiltra- tion of macrophages and isolated giant cells.

and loose connective tissue capsule was formed at the interface between the gel and the tissue. It had only a few layers of collagenous fibers and fibroblasts. Lymphocytic macrophage infiltration was insignificant and sometimes vir- tually absent (fig. 6). Some tissue portions outside the capsule showed vacuoles where the gel was present prior to resorption. The appearance of a small number of mac- rophages and giant cells in such tissues was not associ- ated with inflammatory infiltration (fig. 7).

Two patients were treated by the administration of 200 ml Formacril into the residual cavity of the capsule following the removal of the silicone mammary prosthesis. Aspirates from the prosthesis capsule were taken for microbiologi- cal analysis 6 and 6.5 months after the gel administration. The study revealed only weak tissue reaction to the im- plant. The old fibrous capsule underwent involution. The implant was surrounded by a thin connective tissue cap- sule having no inner myofibroblastic layer, unlike the cap- sule of the silicone prosthesis. Some parts of the new capsule showed small lympho-macrophage infil- trates in the absence of neutrophilic inflammation. The vessels in the capsule are not numerous, and but dys- trophically changed.

The pericapsular space contained connective tissue elements (thin collagenous fibers, fibroblasts, and mac- rophages) that invaded surface layers of the implant (fig. 8). Fibroblasts were bigger and more active than in the capsule and contained more cytoplasmic RNA. Some of them had well-developed foamy cytoplasm suggesting active phagocytosis. These cells and the thin connective tissue capsule underwent fragmentation and involution. The fine cords in some lympho-vascular tissue



Рис. 8. Тканевая реакция через 6,5 месяца после субплатарной имплантации «Формакрила» пациентке для мамопластики. Вокруг имплантата тонкая плотная капсула, окрашенная гематоксилин-эозином, х 300.

Fig. 8. Tissue reaction 6.5 months after Formacryl implantation into the submammary cavity of a female patient for mammoplasty. The implant is surrounded by a thin dense capsule giving rise Hematoxylin-eosin, x300.

вблизи капсулы на фрагменты. В одних фрагментах гели сохраняют гомогенность, в других приобретает мелкоячеистую или фибриллярную структуру.

Такое изменение геля наступает только вблизи капсулы, особенно макрофагов, и предшествует его фагоцитозу этими клетками. На внутренней поверхности капсулы местами видны скопления пенящихся макрофагов, фагоцитирующих гели, а также немногочисленные гигантские многоядерные клетки. Внутри отдаленных от капсулы участков геля видны лишь единичные клеточные элементы (макрофаги).

## Обсуждение

Формирование капсулы вокруг любого имплантата является закономерной, эволюционно выработанной реакцией организма, стремящегося к ограничению инородного тела, и проявлением защитной функции соединительной ткани. Такая реакция начинается с асептической (при стерильности материала) воспаления (реакции микрососудов, отека, нейтрофильной инфильтрации), затем превалирует макрофагальная реакция, затем последовательно - пролиферация фибробластов, синтез коллагена и гликозамингликанов, формирование соединительно-тканной капсулы, ее созревание, уплотнение и истончение [1]. Если материал в принципе подвергается биодеградации (лизису, разрушению), то макрофагальная и гигантско-клеточная реакция пролонгируются вплоть до окончательной резорбции. Интенсивность каждого из этих звеньев (схема на рис. 9) определяет выраженность следующего звена и процесса в целом, а также конеч-

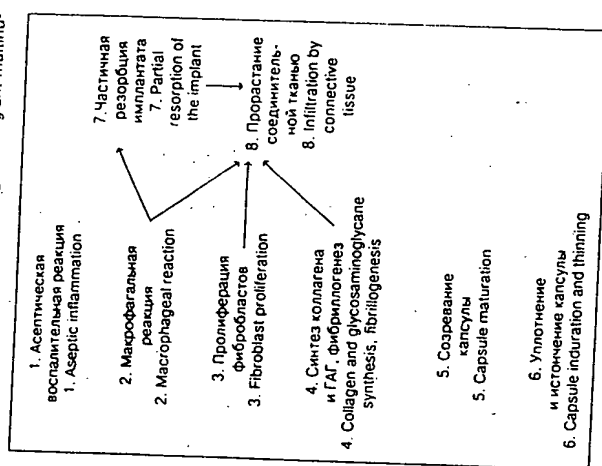


Рис. 9. Морфогенез тканевой реакции при имплантации полиакриламидного гидрогеля.  
Fig. 9. Schematic representation of tissue morphogenesis in response to implanted polyacrylamide gel.

geneous whereas in others it had microcellular or fibrillar structure.

These changes in the gel structure were apparent only where it was in contact with cells, especially macrophages, and betokened its phagocytosis by these cells. The inner surface of the capsule exhibited aggregates of phagocytic foamy macrophages and isolated giant multinuclear cells. Deeper gel layers contained few cellular elements (macrophages).

## Discussion

Capsule formation around any implant is a natural response of the organism that has developed in the course of biological evolution. It serves to isolate an intruding foreign body and is supported by the protective function of connective tissue. The response normally begins with aseptic inflammation (provided it is induced by sterile heterologous material) manifest as microvascular reaction, edema, and neutrophilic infiltration. This initial stage is first followed by the macrophage reaction and then by fibroblast proliferation, collagen and glycosaminoglycane synthesis, formation of the connective tissue capsule, its subsequent maturation, induration, and thinning (in that order) [1]. Given a biodegradable material, it undergoes lysis or phagocytosis by macrophages and giant multinu-

clear cells until complete resorption. Each of the above stages appears to determine the rate and intensity of the next one and of the process at large (see the diagram in fig. 9) and thus contributes to the final thickness and fibrocellular composition of the capsule.

In principle, there are no ideal biocompatible materials for implantation. Therefore, any such material should be expected to induce the above response. However, its manifestations (e.g. the rate and the patterns of capsule formation) are greatly influenced by biological activity and other properties of the implant. In this context, the most essential characteristics of natural implanted materials (biotissues, collagen, etc.) are immunogenic potential and morphological structure whereas those of synthetic polymers, metals, and other artificial analogs are toxicity and structural features.

These considerations are equally relevant for injectable materials used in soft tissue reconstruction and endoprostheses. Such materials based on silicone and other hydrophobic gels, tellon microparticle dispersions, glycerol [2] or hydrophilic biopolymer gels (collagen, aluronate, cellulose, etc.) [3, 4] have recently been winning growing popularity among plastic and reconstructive surgeons. Each has its merits and demerits, but the practical use of all of them is restricted by the amount of the material which may be administered to a patient (not more than 1-2 g).

The literature on the medical application of hydrophilic polymer gels has recently increased and concerns such synthetic materials as dense swelling dextrane-based hydrogels (Debrisan, Sephadex, Biogel), polyvinylalcohols (e.g. Gelevin), methyl methacrylate/acrylate copolymers, etc. used in the capacity of sorbents, drains, and lussue substitutes.

A few reports are connected with an injectable hydrogel product (Interlal, Kiev) based on a cross-linked polyacrylamide polymer. This material has been used for reconstructive surgery of soft tissues and endoprosthetic mammoplasty [5, 6]. The authors consider the hydrogel to be biologically inert, but a comparative study of tissue responses to Interlal and Formacryl [7] has demonstrated that the former causes earlier development of inflammation, is more readily infiltrated by connective tissue elements and resorbed by macrophages. As a result, Interlal undergoes faster structural changes (compared with Formacryl) which may be accounted for by different modes of polymerization and cross-linking during synthesis of these materials.

Our findings reported in the present paper indicate that the new polyacrylamide hydrogel Formacryl manufactured by the Gel Cosmestic Technology, Moscow, meets the major criteria for synthetic products recommended for clinical application in plastic surgery. It has advantages over analogous materials in that it is sufficiently viscous and elastic, fairly well keeps the initial shape, undergoes no shrinkage, does not dissolve or swell in the tissue fluid, is penetrable for ions and oxygen, and resists enzymatic digestion. The properties of Formacryl remain unaltered long



ра, в региональные лимфоузлы и в кровяное русло, не вызывает клеточного атрофия.

Гистологическое и гистохимическое исследование в длительной динамике на животных (крысах, собаках), а также на клиническом материале свидетельствуют о высокой степени биосовместимости гидрогеля. В ранние сроки воспалительная реакция замедленной и малой, фибропластическая реакция была минимальной, капсула формировалась поздно и постоянно оставалась очень тонкой. Гель не снижал функциональной активности клеток и не приводил к их дистрофии, что свидетельствует об отсутствии миграции из него в ткань токсических веществ (мономеров).

Следует отметить, что высокая биосовместимость не означает полной бионертности геля. Макрофагальная реакция, вызванная имплантатом, хотя и выражена слабо, была пролонгированной. Макрофаги очень медленно резорбируют гель в краевых участках (близи капсулы), где обнаруживаются их небольшие скопления. Очень важен способ резорбции. По-видимому, фагоцитоз неизмененного геля невозможен, так как он представляет собой цельный полимер (поперечносвязанные цепи). Однако некоторые связи в полимере чувствительны к активным формам кислорода (АФК), которые продуцируют макрофаги. При разрушении цепей образуется линейный полимер и низкомолекулярные продукты, фагоцитируемые макрофагами. Нейтрофильные лейкоциты также продуцируют АФК, но они скапливаются в большом количестве только при инфицировании или микробной, вот почему принципиально важна полная стерильность геля и операционного поля.

Характерно, что глубокой инвазии в гель макро- и микробов мы не наблюдали, с чем связано и его длительная устойчивость в тканях. По-видимому, структура геля с его замкнутыми цепями препятствует клеточной инвазии, но в периферических слоях макрофаги постепенно проделывают «каналы», по которым движутся и фибробласты, так формируются соединительнотканые тяжи, которые в прикапсульных слоях делят гель на фрагменты, в которых структура его разрушается АФК (мы наблюдали там просветление, мелкоячеистую вакуолизацию и фибриллизацию геля), а затем фагоцитируются клетками. Пустые ячейки после лизиса геля еще долго остаются в капсульной зоне.

Следует отметить, что тканевая реакция принципиально зависит от степени полимеризации геля. В наших опытах менее сшитые образцы геля давали значительно более выраженную воспалительную реакцию, более интенсивную макрофагальную резорбцию и прорастание собственной тканью организма. Это связано с более быстрым и массовым разрушением межмолекулярных связей геля АФК макрофагов и нейтрофилов, в этом случае глубоко проникающих в гель. Структура его, видимо, разрушалась, тканевая реакция при этом усиливалась. Повышенная гидратация геля (с 95 до 98 % воды в нем) также усиливает тканевую реакцию и резорбцию, что свидетельствует о важности структуры геля для его бионертности. Возмож-

after its implantation. It does not cause calcosinosis, dystrophic or necrotic lesions in the surrounding tissues, nor does it induce undesirable immune reactions, migrate to regional lymphatic nodes and circulatory system or cause atypical cell growth.

Results of long-term dynamic histological and histochemical studies on rats and dogs as well as clinical findings suggest a high degree of biocompatibility of Formacryl. It provoked only minimal inflammatory reaction in the early post-implantation period, along with weak and delayed fibroblastic response, and gave rise to a capsule which was formed rather late and remained very thin. The hydrogel neither interfered with the functional activity of cells nor caused cellular dystrophy. Thus, it did not release any toxic substances (monomers) into the surrounding tissues.

It should be emphasized that conspicuous biocompatibility of Formacryl does not mean that it is an absolutely inert material. Although the gel elicited only weak response of macrophages, it persisted for rather a long period. Moreover, macrophages caused slow marginal gel resorption in the immediate vicinity of the capsule where small aggregates of these cells occurred. The mode of resorption is of primary importance. Phagocytosis of the intact gel appears impossible because the implant is in fact a polymeric block with strong cross-links between the chains. However, certain links may happen to be susceptible to active oxygen radicals (AOR) released by macrophages. AOR break some chains and give rise to a linear polymer and low molecular-weight products phagocytized by macrophages. Neutrophils also produce AOR, but large congregations of these cells occur only in infected gels or tissues. This accounts for the importance of sterility of both the gel and the surgery field.

It is noticeable that we did not observe macro and microphages penetrating deep into the gel which explains persistence of the implanted material. Closed chains in the gel structure appear to withstand cell invasion, but its peripheral portions are slowly penetrated by macrophages which make «tunnels» used by migrating fibroblasts. In this way connective tissue cords are formed which separate pericapsular gel layers into fragments which are further destroyed by AOR. This results in enhanced transparency of the gel, its vacuolization and «fibrillization». In the end, the gel is phagocytized by the cells, and tissue voids remaining after lysis can long be seen in the retrocapsular zone.

It is worthwhile noting that the tissue response depends on the degree of polymerization. In our experiments, gels with the smallest amount of cross-linking induced most prominent inflammatory reaction, intensive resorption, and invasion by the surrounding tissue elements, due to the fast and extensive breakage of intermolecular bonds by AOR of macrophages and neutrophils, which in this case penetrated deep into the gel. The gel lost its structural integrity while tissue responsiveness increased. Enhanced hydration (from 95 to 98% water content) had similar effect on tissue responsiveness and resorption giving

но, что различия в структуре объясняют разные результаты при имплантации гидрогеля «Формакрил» и «Интерфал».

Анализ особенностей поведения гидрогеля в организме и условий для тканевой реакции может быть использован для дальнейшей оптимизации его структуры, а также для модификации в разных направлениях для создания форм, предназначенных для разных целей. В частности, в том числе и в условиях инфекции. В настоящее время «Формакрил» может быть эффективно использован для корригирующей контурной пластики мягких тканей лица, конечностей и других частей тела, в качестве экспандера для дермотензии, тампонирования полостей и т.д. Для маммопластики инъекционный метод введения геля должен использоваться только при заранее сформированной капсуле (во избежание его попадания в протоки железы) или для заполнения протеза с силиконовой оболочкой [8].

## Выводы

1. Полиакриламидный гидрогель «Формакрил» является эффективным средством для инъекционной контурной пластики мягких тканей, заполнения протезов молочной железы и других целей, так как он при имплантации не разрушается, обладает длительной формоустойчивостью, вязкостью и упругостью.
2. Тканевая реакция на имплантацию «Формакрила» минимальна: воспалительная реакция в ранние сроки очень мала, фибропластическая реакция слабо выражена, капсула в поздние сроки остается тонкой, резорбция геля макрофагами и прорастание его соединительнотканью происходит очень медленно и длительно, при этом происходит очень медленное и только в прикапсульном слое. Активность тканевой реакции определяется молекулярной структурой геля.
3. Высокая биосовместимость геля «Формакрил» позволяет вводить реципиенту относительно большой его объем.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Шехтер А.Б., Серов В.В. Воспаление и регенерация. В кн.: Воспаление, ред. В.В. Серов, В.С. Пауков. 1995. - С. 200-218.
2. Lewy R.B. Teflon injection of the vocal cord: complications errors and precautions. Ann. Otolaryng. - 1983. - V. 52. - P. 473-475.
3. Ford C., Martin D.M., Warner T.F. Injectable collagen in laryngeal rehabilitation. Laryngoscope. - 1984. - V. 94. - P. 513-518.
4. Гурьянов А.С., Соловьев М.М., Хасанов Р.А. Гамма-стерилизованный инъекционный аллогенный коллаген. В кн.: Современные подходы к разработке переносимых средств, шовных материалов и полимерных имплантатов. - Москва, 1995. - С. 273-274.
5. Земсков В.С., Кебуладзе И.И., Павлык Б.И., Колмакская Л.Б. Контурная пластика конечностей с применением гидрофильного полиакриламидного геля. В кн.: Современные подходы к разработке переносимых средств, шовных материалов и полимерных имплантатов. - Москва, 1995. - С. 206-208.

another evidence of the importance of maintaining the gel structure which makes it biologically inert. It is inferred that specific structural features of Formacryl and Interfal are responsible for the different outcome of their implantation.

Analysis of hydrogel behaviour in the body and tissue responses to its implantation can be useful for further optimization and modification of the structure with a view to developing new varieties of the material for plastic surgery, including those to be used in case of infection. At present, Formacryl may be recommended for reconstructive soft tissue contour plastics of face, limbs, and other parts of the body, as an expander for dermolenation, and a filling agent for tissue cavities. Gel injections for mammary aplasty are practicable only in a preliminarily prepared submammary cavity (to avoid its generation into mammary ducts) or in the silicone envelope of a mammary prosthesis [8].

## Conclusion

1. Polyacrylamide hydrogel Formacryl is an effective injectable material for contour plastics of soft tissues, filling mammary prostheses, and other medical problems due to its viscosity and elasticity and the ability to retain the initial shape in the absence of swelling or dissolution.
2. The tissue response to Formacryl includes minimal inflammation and weak fibroblastic reaction soon after the implantation. The capsule remains thin in the late post-injection period. Gel resorption by macrophages and its invasion by connective tissue are slow and confined to the pericapsular layer. Tissue responsiveness depends on the molecular structure of the gel.
3. Formacryl being a highly biocompatible material, relatively high amounts of the gel may be safely administered in a recipient.

## REFERENCES

1. Шехтер А.Б., Серов В.В. Воспаление и регенерация. В кн.: Воспаление, ред. В.В. Серов, В.С. Пауков. 1995. - С. 198-199.
2. Кебуладзе И.И., Земсков В.С., Павлык Б.И., Колмакская Л.Б. Маммопластика с применением гидрофильного полиакриламидного геля. В кн.: Современные подходы к разработке переносимых средств, шовных материалов и полимерных имплантатов. - Москва, 1995. - С. 206-208.
3. Шехтер А.Б., Лопатин В.В., Чучия С.Л., Матвишвили Г.Г. Тканевая реакция при имплантации полиакриламидного гидрогеля. В кн.: Реконструктивно-восстановительная хирургия молочной железы. Москва, 1996. - С. 121-122.
4. Лукомский Г.И., Шехтер А.Б., Эль-Санд А.Х., Лопатин В.В. Капсулярные фиброзы и их лечение после маммопластики силиконовыми эндопротезами // Анн. пласт. реконстр. и эстет. хирургии. - Москва, 1997. - № 1. - С. 75-87.